

자궁경부암 동물모델의 제작과  
특성분석을 통한 항암제 감수성 평가

연세대학교 대학원

의 학 과

최 현 일

자궁경부암 동물모델의 제작과  
특성분석을 통한 항암제 감수성 평가

지도 차 동 수 교수

이 논문을 석사 학위논문으로 제출함

2014년 12월 일

연세대학교 대학원

의 학 과

최 현 일

# 최현일의 석사 학위논문을 인준함

심사위원 차 동 수 인

심사위원 김 수 기 인

심사위원 최 성 진 인

연세대학교 대학원

2014년 12월 일

# 차 례

그림 및 표 차례 .....	iii
국문요약 .....	1
I. 서론 .....	2
II. 재료 및 방법 .....	6
1. 실험 세포주 및 배양 .....	6
2. 시약 및 항암제 .....	7
3. 실험동물 .....	7
4. <i>in vitro</i> 항암제 감수성 검사 (2차원 세포배양) .....	8
5. <i>in vitro</i> 항암제 감수성 검사 (3차원 세포배양, 3-D HDRA) .....	9
6. GFP-HeLa 자궁경부암 세포주를 nude mouse의 피하조직에 주사하여 xenograft 모델 제작 .....	10
7. 피하조직 xenograft 모델에서 적출한 암종괴를 nude mouse의 피하조직에 이식하여 xenograft 모델 제작 .....	11
8. <i>in vivo</i> 항암제 효능실험 .....	12
9. 분석및통계처리 .....	13
III. 결과 .....	14
1. GFP-HeLa 세포주 배양 .....	14
2. GFP-HeLa 세포주의 <i>in vitro</i> 항암제 감수성 검사 (2차원 세포배양) .....	15

3. GFP-HeLa세포주의 <i>in vitro</i> 항암제 감수성 검사(3차원 세포배양) ..	16
4. 배양 세포주 이식 .....	18
5. <i>in vivo</i> 항암제 효능실험 결과 .....	20
IV. 고찰 .....	24
V. 결론 .....	28
참고문헌 .....	29
영문요약 .....	36

## 그림 및 표 차례

Table 1. GFP-HeLa 종괴에 대한 항암제의 효과.....	20
Fig. 1. GFP-Imaging System .....	11
Fig. 2. GFP-HeLa xenograft 모델을 이용한 <i>in vivo</i> 항암제 효능실험의 시간표.....	12
Fig. 3. GFP-HeLa 세포주의 관찰.....	14
Fig. 4. GFP-HeLa 세포주의 2차원 세포배양법을 이용한 항암제 감수성 profile.....	16
Fig. 5. GFP-HeLa 암종괴의 3차원 조직배양법을 이용한 항암제 감수성 profile.....	17
Fig. 6. GFP-HeLa 세포주 이식 후 종괴의 성장 과정.....	19
Fig. 7. 약제 투여에 따른 GFP-HeLa 종괴의 성장 비교 .....	21
Fig. 8. 11주 후 GFP-HeLa 종괴의 크기 .....	22

## 국문요약

# 자궁경부암 동물모델의 제작과 특성분석을 통한 항암제 감수성 평가

자궁경부암은 2012 년도에만 전 세계적으로 약 266,000 명이 사망한 중요한 여성 암이다. 자궁경부암의 치료를 위한 여러 가지 시도들이 있어왔는데, 최근 들어 자궁경부암 항암치료의 개인적인 적합성을 고려한 항암제 감수성 검사(HDRA)가 시도되고 있다. 암의 생물학적 특성과 항암제의 작용을 치료 전 평가하기 위한 이러한 기술은 적절한 소동물 모델을 필요로 한다. 그러나 현재 이러한 효능성을 평가하기 위한 소동물 모델(small animal model)의 연구는 현재 미비한 수준이다. 이에 본 연구에서는 이러한 소동물 모델을 자궁경부 암세포주를 이용하여 제작하여 현재 사용 되어지고 있는 항암제에 대한 감수성 검사를 시행 하였으며, 소 동물 모델제작을 통한 항암제 감수성 검사의 유용성을 확인하였다. 이러한 항암효과에 대한 예측은 치료에 대한 반응을 개선하고 이상반응을 줄여 줌으로서 자궁경부암 환자의 삶의 질을 향상시켜주며, 개인적 특성에 맞는 치료의 가능성을 열어준다. 종합적으로, 자궁경부암 동물모델을 이용한 항암제 감수성 검사(HDRA)가 자궁경부암 치료를 위한 개별적 치료전략수립에 유용한 방법임을 보여 주었다.

---

핵심되는 말 : 자궁경부암, 소동물모델, 항암제 감수성 검사(HDRA)

# 자궁경부암 동물모델의 제작과 특성분석을 통한 항암제 감수성 평가

<지도교수 차 동 수>

연세대학교 대학원 의학과

최 현 일

## I. 서론

자궁 경부 암은 전 세계 여성 암 발생률 중 유방암에 이어 두 번째로 흔한 암이며, 매년 528,000명 이상이 신규로 발생하고 2012년에는 약 266,000명이 사망하여 세계보건학적 측면에서 매우 중요한 질환으로 간주되고 있다. 우리나라의 경우 2013년에 발표된 중앙 암 등록본부 자료에 의하면 2011년에 우리나라에서는 연 218,017건의 암이 발생되었는데, 그 중 상피내암을 제외시킨 자궁 경부 암은 연 3,728으로 전체 암 발생의 1.7%로 여성의 암 중에서는 갑상선 암과 유방암에 이어 3위를 차지하였다. 자궁 경부 암의 치료는 수술과 방사선 및 항암화학요법이다. 이 중 항암화학요법의 경우 같은 약제에 대해서도 환자 개개인에 따라 다양한 치료반응과



결과를 보이므로 가장 효과적인 항암제를 선택하기 위한 많은 연구가 진행되어 왔다 (Hoffman, 1993). 환자의 적출된 암 조직을 사용하여 항암제의 효과를 예측하는 검사인 항암제 감수성 검사는 세포배양을 이용한 2차원 모델과 조직배양을 이용한 3차원 모델로 크게 나눌 수 있는데, 2차원 모델은 비교적 배양방법이 간단하여 쉽게 할 수 있다는 장점이 있어 널리 사용되고 있지만 암세포에 있어 중요한 인자인 주변세포와의 상호작용이 배제되어 인체 내의 조직에 존재하는 암세포와 유전자 발현 등에서 차이가 있다고 보고되고 있다 (Kim *et al.* 2004). 이러한 이유로 *in vitro* 배양방법은 일정한 한계를 내포하고 있어 있어 인간의 질병 연구뿐만 아니라 관련 연구에 있어 실험동물들의 중요성이 증대되고 있는데, 질환 모델 제작을 위한 동물로 설치류 특히 마우스가 가장 자주 사용되나, 최근 수의 종양학 (veterinary oncology) 연구에 있어 대형동물 특히 개의 사용하는 가치가 중요하게 부각되고 있어 최근 osteosarcoma, GIST 및 전립선 암, 자궁 경부 암 등에서 부분적인 개 모델 (canine model)을 확립하였으나 인간 종양세포의 생물학, 유전학 및 병리학적 특성을 반영하는데 있어서는 다소 약점을 가지고 있다는 평가를 받고 있다.

Xenograft 모델은 nude mouse 또는 SCID/NOD mouse에 암세포나 조직을 이식한 소동물 모델로서 항암제 후보물질의 항암효과를 예측하기 위한 전 임상 단계 (pre-clinical phase)에서 광범위하게 사용되고 있으며 적절한 환경 하에서는 임상의 결과를 예측하는 용도로 사용되고 있다. 최근에는 환자로부터 적출한 암 조직을 면역기능이 없는 마우스에 이식하고 제한된 계대를 통해 제작된 소동물 모델로서, 환자의 암

조직과 비교하여 tumor stromal cell, cancer stem cell component, 유전자 발현 양상, 암유전자 상태를 비롯한 생물학적 특성이 동일하다고 평가되고 있는 tumorgraft 모델이 개발되고 있다 (Duan *et al.* 2012). 종양세포 또는 조직의 이식 부위에 따라 실험동물의 피하조직에 이식하는 subcutaneous 모델과 종양의 원발부위에 이식하는 orthotopic 모델로 구분할 수 있는데 각기 장단점이 있는데, 피하조직 모델은 이식이 간단하여 특별한 기술이 요하지 않고 종양의 크기 변화나 형태 등을 쉽게 관찰할 수 있다는 장점이 있으나 암세포와 host와의 관계 (호르몬, 조직 특이성, 주변세포와의 상호작용 등이 실제 환자의 상태와는 많은 차이를 보인다는 단점이 있다(Chung *et al.* 2009). 이러한 문제점을 해결하기 위하여 대부분의 연구에서는 형광발현을 이용한 EGFP (enhanced Green Fluorescent Protein)가 안정적으로 발현이 되도록 하는 viral vector를 이용한 EGFP transfection을 사용하는데, 암세포주의 경우에는 비교적 수월하나 환자의 암 조직은 성공률도 낮고 transfected cell의 selection 과정이 필요 하는 등 많은 시간이 소요된다는 문제점이 있다. 국내의 경우 자궁 경부 암에 관한 xenograft 모델로는 HeLa 세포주 (HeLa cell line)를 마우스에 주입하여 PEG/PLLA copolymer system을 사용한 항암제 paclitaxel의 효과를 평가한 연구와 마우스에 HPV16 E6/E7 유전자를 주입하여 형질전환 마우스를 제작하여 피부발암원성 평가를 수행한 연구 (Ryoo *et al.* 2005)가 있다.

본 연구에서는 대표적인 자궁 경부 암 세포주인 HeLa cell line을 GFP 단백질이 발현되도록 하여 쉽게 관찰이 가능한 GFP-HeLa 세포주를 이용하여 nude mouse의

피하조직에 자궁 경부 암 조직을 형성한 GFP-HeLa xenograft 모델을 만들고 유효한 항암제의 효능을 *in vivo*에서 평가하여 *in vitro* 실험인 2차원 세포배양, 3차원 조직배양을 이용한 항암제 감수성 검사 결과와 비교하여 각 방법에 따른 항암제 감수성 검사 결과를 비교 분석 후 항암제를 이용한 암 치료 시 약제의 유효성을 예측하여 실제 임상에서의 적용 가능성을 확인 하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 실험 세포주 및 배양

본 연구에서 사용한 GFP-HeLa 세포주는 GFP 유전자를 transfection시켜 제작한 세포주로서 메타바이오주식회사 (한국)에서 분양 받아 사용하였다. GFP-HeLa 세포주를 1% antibiotics, 10% FBS가 함유된 Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) 배지에서 37℃, 5 % 농도의 CO<sub>2</sub>가 유지되는 CO<sub>2</sub> 배양기에서 세포가 100Ø dish의 70-80 %정도의 밀집도가 되도록 배양하였다. 배양이 끝난 후 Trypsin-EDTA 1 ml 넣고 배양기에서 2분간 반응 후 세포를 100Ø dish로부터 떼어내고 10 ml의 PBS를 첨가하여 혼탁시킨 후 1,000rpm으로 원심분리한 후 상층액을 제거하여 세척하였다. 2회의 세척과정이 끝난 세포는 1% antibiotics, 10% FBS가 함유된 DMEM 배지, 세포 혼탁액과 DMSO(dimethyl sulfoxide, Sigma)을 각각 5 : 4 : 1의 비율로 섞어 실험에 사용할 때까지 액체질소 탱크에 보관하였으며, 배양된 세포는 GFP imaging system (UVP Inc., USA)이 장착된 현미경을 통하여 관찰하였다.

## 2. 시약 및 항암제

본 연구에 사용된 시약은 Sigma-Aldrich (St Louis, MO, USA)로부터 구입하여 사용하였으며 항암제인 Adiamycin, Topotecan (일동제약주식회사, 한국), Docetaxel (신풍제약주식회사, 한국), Bleomycin (동아에스티, 한국), Carboplatin (호스피라코리아, 한국), Cisplatin (중외제약주식회사, 한국), Cyclophosphamide, Ifosfamide (부광약품주식회사, 한국), VP16(etoposide) (보령제약주식회사, 한국), Gemcitabine (한국셀리, 한국), Paclitaxel (한국 BMS, 한국) 을 각각 구입하여 실험에 사용하였다. 실험에 사용된 항암제들은 각 제조사 사용 및 관리지침에 따라 사용하였으며, 보관은 4 °C 냉동고에 하였다.

## 3. 실험동물

실험동물은 동물실험 윤리가이드라인을 따라 수행 되었으며, 동물실험윤리위원회의 승인을 거쳐 (동물실험윤리위원회 승인번호 : MBIACUC201420) 5주령의 암컷 nude mouse (BALB/c)를 Samtako사 (한국)로부터 구입하여 온도  $23 \pm 3$  °C, 상대습도  $55 \pm 15$  %로 항온 항습 장치를 이용하여 약 일주일 동안 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 동물사육 cage는 IVC Rack을 사용하며, 미세여과기를 이용하여 멸균한 물과 멸균 사료를 자유 섭취하도록 사육하였다. 3 ~ 4일에 한번 멸균된 깔짚으로 교환

하여 세균에 감염되지 않도록 사육하였다. 동물실험에 관련한 모든 시설은 GLP (Good Laboratory Practice) 기준을 따랐으며, 실험에 사용된 모든 동물들은 SPF (Specific Pathogen Free) 상태를 유지하였다.

#### 4. *in vitro* 항암제 감수성 검사(2 차원 세포배양)

계대 배양 중인 세포를 96 well plate에 각 well 당  $1 \times 10^3$ 개/ $180 \mu\text{l}$ 가 되도록 분주하고  $37^\circ\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$  배양기에서 하룻밤 동안 배양하였다. 배양된 각 well에 Bleomycin, Carboplatin, Cisplatin Cyclophosphamide, Adriamycin, Docetaxel, VP16 (etoposide), Gemcitabine, Ifosphamide, Paclitaxel, Topotecan의 항암제를 3-D HDRA에 사용하는 농도의 1/10을 되도록  $20 \mu\text{l}$ 의 약제를 첨가한 후 (Bleomycin :  $2 \mu\text{g/ml}$ , Carboplatin :  $5 \mu\text{g/ml}$ , Cisplatin :  $1 \mu\text{g/ml}$ , Cyclophosphamide :  $2 \mu\text{g/ml}$ , Adriamycin :  $0.6 \mu\text{g/ml}$ , Docetaxel :  $7.5 \mu\text{g/ml}$ , VP16 :  $5 \mu\text{g/ml}$ , Gemcitabine :  $5 \mu\text{g/ml}$ , Ifosphamide :  $25 \mu\text{g/ml}$ , Paclitaxel :  $1 \mu\text{g/ml}$ , Topotecan :  $1 \mu\text{g/ml}$ ), 72시간 동안  $37^\circ\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$  배양기에서 72시간 동안 배양하였다. 배양이 끝난 후 각 well에 배양한 세포의 생존율을 확인하기 위하여 MTT assay를 수행하였으며, ELISA reader기로 540nm /630nm에서 IR (Inhibition Rate)값을 측정하였다. 측정된 흡광도를 이용하여 다음의 공식을 이용하여 IR을 계산하였다. IR이 30% 이상이면 각 drug의 cutoff 농도에 대한 tumor의 감수성이 양성인 것으로 판정하였다.

	<b>Inhibition rate (%) = ( 1 - T/C ) × 100</b>
<b>T</b>	약제를 처리한 well의 조직 그람 (g)당 흡광도 (absorbance)
<b>C</b>	Control well의 조직 그람 (g)당 흡광도 (absorbance)

## 5. *in vitro* 항암제 감수성 검사 (3 차원 세포배양, 3-D HDRA)

종괴가 형성된 마우스로부터 적출한 암 종괴를 실험에 사용할 때까지 transport media에 넣어 4 ℃를 유지하였으며 실험의 모든 단계에서 세척액은 4 ℃로 cooling된 것을 사용하였으며, 암종괴는 약 1X1X1 mm<sup>3</sup>의 크기로 자른 후 배양액을 4.5 ml 넣고 4 mg/ml MTS (CellTiter 96 AQueous One Solution Cell Proliferation Assay kit, Promega, USA)를 500 $\mu$ l 첨가하고, 37 ℃ CO<sub>2</sub> incubator에서 1~2시간 배양한 후 실험에 사용 하였다. 전날 미리 준비된 96well culture plate의 각 well에 동일한 무게의 암조직을 넣은 후 미리 준비된 10X농도의 약제를 20 $\mu$ l를 첨가하였다. 실험은 2회 반복실험을 기본으로 하였으며, 약제를 첨가한 후 72시간 동안 37℃, 5% CO<sub>2</sub> 배양기에서 배양하고, 배양이 끝난 후 각 well에 배양한 세포의 생존율을 확인하기 위하여 MTT assay를 수행하였다. ELISA reader기로 측정된 흡광도를 이용하여 다음의 공식을 이용하여 IR을 계산하였다. IR이 30% 이상이면 각 drug의 cutoff 농도에 대한 tumor의 감수성이 양성인 것으로 판정하였다.

	<b>Inhibition rate (%) = ( 1 - T/C ) × 100</b>
<b>T</b>	약제를 처리한 well의 조직 그람 (g)당 흡광도 (absorbance)
<b>C</b>	Control well의 조직 그람 (g)당 흡광도 (absorbance)

MTT assay와 동시에 glucose consumption assay를 실시하였다. glucose consumption assay는 각 well의 배양액 20 $\mu$ l를 v-plate에 옮긴 후 glucose solution (95% Acetic acid, 5% O-Toluidine, 0.25% Thiourea)을 첨가하였다. 첨가한 well을 8~12분간 중탕하며 반응시키고 얼음에서 충분히 냉각시킨 후 새로운 96well plate에 옮겨 ELISA reader기로 630nm의 파장으로 O.D값을 측정하였다.

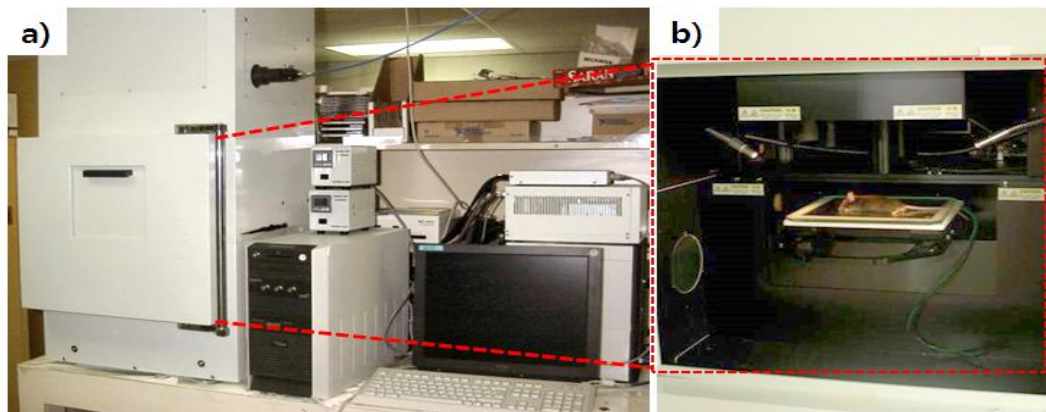
## 6. GFP-HeLa 자궁경부암 세포주를 nude mouse 의 피하조직에 주사하여 xenograft 모델 제작

분양 받은 세포주는 DMEM배지에 37℃, 5% CO<sub>2</sub> 인큐베이터에서 배양하였다. 5주령의 암컷 nude mouse를 온도가 23 ± 3 ℃, 상대습도 55 ± 15 %로 항온 항습 장치를 이용하여 약 일주일 동안 적응시킨 후, 배양된 HeLa cell 0.2ml (6X10<sup>6</sup> cell/mouse)가 되도록 준비하고 nude mouse의 피하에 주사기로 이식하고 종양의 형성 유무를 관찰하였다. 동물사육 cage는 IVC Rack을 사용하였으며 3 ~ 4일에 한번 멸균된 깔짚으로 교환해 주었고 미세여과기를 이용하여 멸균한 물과 멸균 사료를 자유 섭취하도록 사육하였다.



## 7. 피하조직 xenograft 모델에서 적출한 암종괴를 nude mouse 의 피하조직에 이식하여 xenograft 모델 제작

피하조직에 형성된 종양이 크기가 약  $250\text{mm}^3$  정도가 되면 마우스로부터 암조직을 적출하여 이식 때까지  $4^\circ\text{C}$  transport media에 보관하였다. 약 5주령의 암컷 nude mouse를 온도가  $23 \pm 3^\circ\text{C}$ , 상대습도  $55 \pm 15\%$ 로 항온 항습 장치를 이용하여 약 일주일 동안 적응시킨 후 이식에 사용하였는데 암종괴를  $2\text{X}2\text{X}2\text{ mm}$ 의 크기로 잘라 1 조각을 nude mouse의 피하조직에 미세수술을 통하여 이식하였다. 생성된 암종괴는 GFP imaging system(UVP Inc., USA, 그림 1)을 이용하여 관찰하였다.

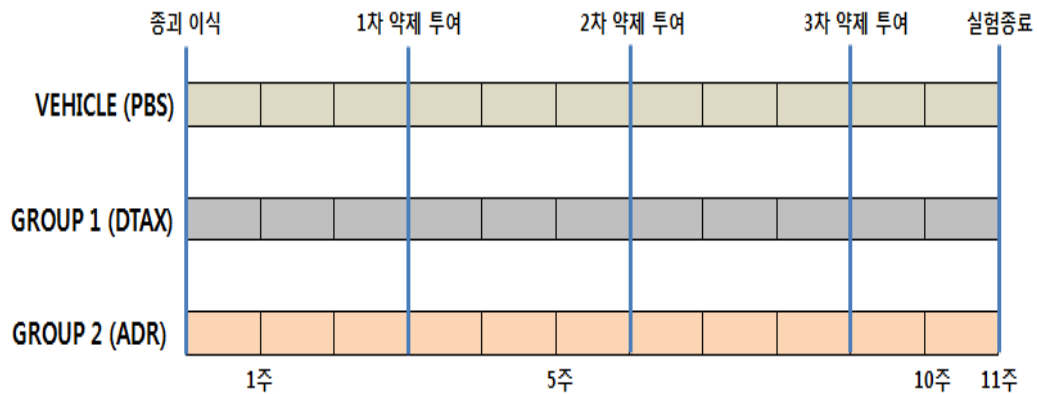


<Fig. 1> GFP-Imaging System. a) GFP-Imaging System의 외관 b) GFP-Imaging System의 Observation Chamber.

- a) 소동물 in vivo에 발현된 다양한 형광물질을 검출하여 이미지화 할 수 있는 장치로 proteomics, plant and animal research에 이용된다. b) 실험에 사용된 누드마우스 종양에 발현된 GFP를 측정하여 종양의 크기를 관찰한다.

## 8. *in vivo* 항암제 효능실험

종괴가 형성된 마우스로부터 적출한 암종괴를 2X2X2 mm 의 크기로 작게 잘라 1 조각을 nude mouse 의 피하조직에 미세수술을 통하여 15 수의 nude mouse 의 피하조직에 이식한 후 3 주후부터 암종괴의 크기를 측정하고 암종괴의 크기가 다른 마우스에 비해 차이가 나는 3 수를 제외한 12 수를 VEHICLE (PBS), Group 1 (Docetaxel)과 group 2 (Adriamycin)의 3 군으로 나누어 각각 PBS, Docetaxel 과 Adriamycin 을 3 주 간격으로 꼬리정맥에 투여하였다. Xenograft 모델에 투여하는 항암제의 양은 체중 Kg 당 1.2~2.4 mg (역가)을 1 회 정맥주사하고 3 주간 방치하였다. 주당 1 회씩 GFP-Imaging system 을 이용하여 암종괴의 성장을 관찰하였으며 11 주까지 관찰한 후 실험을 종료하였다. 전체적인 실험 시간표는 그림 2 와 같다.



<Fig. 2> GFP-HeLa xenograft 모델을 이용한 *in vivo* 항암제 효능실험의 시간표.

Xenograft 모델인 실험동물을 세 그룹으로 구분하여 11가지 항암제를 11주 동안 약제 투여 시기 (1-3차)에 따라 누드마우스의 꼬리 정맥을 통하여 주사하였다. 약제 투여 일정은 제시된 실험 시간표에 제시된 일정에 따라 진행 하였다.

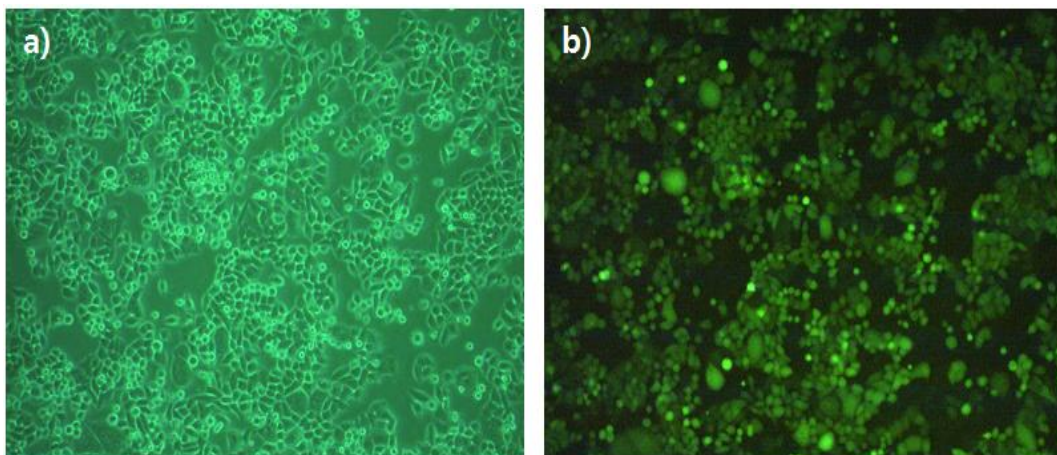
## 9. 분석 및 통계처리

항암제 감수성의 유의성 검사를 위해 15수의 누드 마우스의 암종괴 크기를 육안으로 관찰 한 후 Vernier calipers를 사용하여 암종괴의 가로 및 세로 크기를 측정하여 평균값 (mm<sup>3</sup>)을 구하였다. Group 1 (DTAX)군과 Group 2 (ADR)군 및 대조군으로 Vehicle (PBS)군과 종양 사이즈의 비교를 통해 항암제 유의성을 분석하였으며 마우스 희생일 대조군과 항암제 처리 실험군과의 암종괴 사이즈 비교 시 0.0배일 경우 “무변화”, 1.0-2.0배일 경우 시 “효과”, 2.0배 이상은 “최적”으로 정의하였다. 항암제 반응에 영향을 미치는 실험동물 개체 및 그룹간 비교와 측정값은 각 실험 그룹에 사용된 누드 마우스 4수 각각의 독립된 암종괴 사이즈 측정값의 평균값과 표준편차 (Mean±SD)로 표현하였다.

### III. 결과

#### 1. GFP-HeLa 세포주 배양

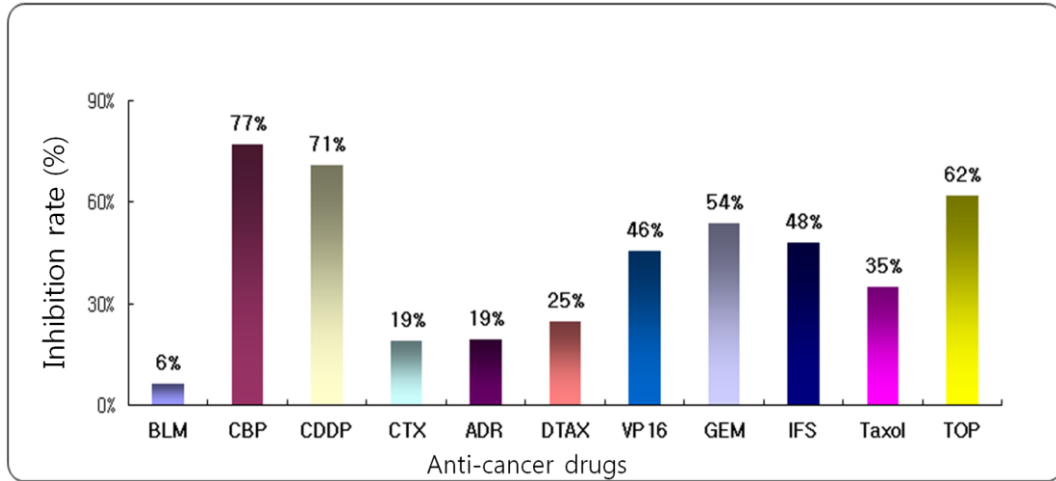
본 연구에 사용된 GFP-HeLa 세포주는 성장속도에 있어 기본 적인 HeLa 세포와 동일하였으며 약 2일에 한 번씩 계대배양하였다. 배양과정 중에 관찰하였을 때 395/475 nm의 광원 하에서 뚜렷하게 형광을 나타내었다 (그림 3).



<Fig. 3> GFP-HeLa 세포주의 관찰. a) 가시광선하에서 관찰, b) 395/475 nm 광에서 관찰. a) GFP가 발현되도록 gene cloning한 HeLa cell을 일반광학현미경하에서 관찰한 morphology. b) 자외선 영역에서 GFP발현 HeLa cell은 정상적으로 GFP를 발현하였다.

## 2. GFP-HeLa 세포주의 *in vitro* 항암제 감수성 검사 (2차원 세포배양)

GFP-HeLa 세포의 항암제 감수성 profile을 확인하고자 2차원적 배양방법을 사용하여 항암제 감수성 검사를 수행하였다. 통상적으로 2차원적인 배양에서는 배양세포는 배양용기의 바닥에 고착되어 자라기 때문에 배양배지로부터 직접 영양분과 항암제에 노출이 되어있다. 이러한 이유로 3차원적인 조직배양에 사용되는 항암제에 비해 1/10 ~ 1/100의 항암제를 사용하는데 본 연구에서는 1/10농도와 1/100농도 2가지를 모두 시행하였다. 그러나 1/100 농도에서는 3차원조직배양 방법을 사용한 항암제 감수성과 많은 차이를 보여 1/10 농도의 항암제를 사용한 결과를 분석에 사용하였다. 기본적으로 자궁경부암에 통상적으로 사용되는 약제인 Bleomycin, Carboplatin, Cisplatin, Cyclophosphamide, Adriamycin, Docetaxel, VP16 (etoposide), Gemcitabine, Ifosphamide, Paclitaxel, Topotecan의 11가지 약제에 대한 항암제 감수성 profile은 각각 6%, 77%, 71%, 19%, 19%, 25%, 46%, 54%, 48%, 35%, 62%의 inhibition rate를 나타내었다. IR에 대한 cut-off는 30%로서, 30% 이하일 때 항암제에 대한 감수성이 없는 것으로 판정한다. 결과에 따르면 Carboplatin, Cisplatin, VP16 (etoposide), Gemcitabine, Ifosphamide, Paclitaxel, Topotecan에 대하여 감수성이 있는 것으로 판정되었다 (그림 4).



<Fig. 4> GFP-HeLa 세포주의 2차원 세포배양법을 이용한 항암제 감수성 profile.

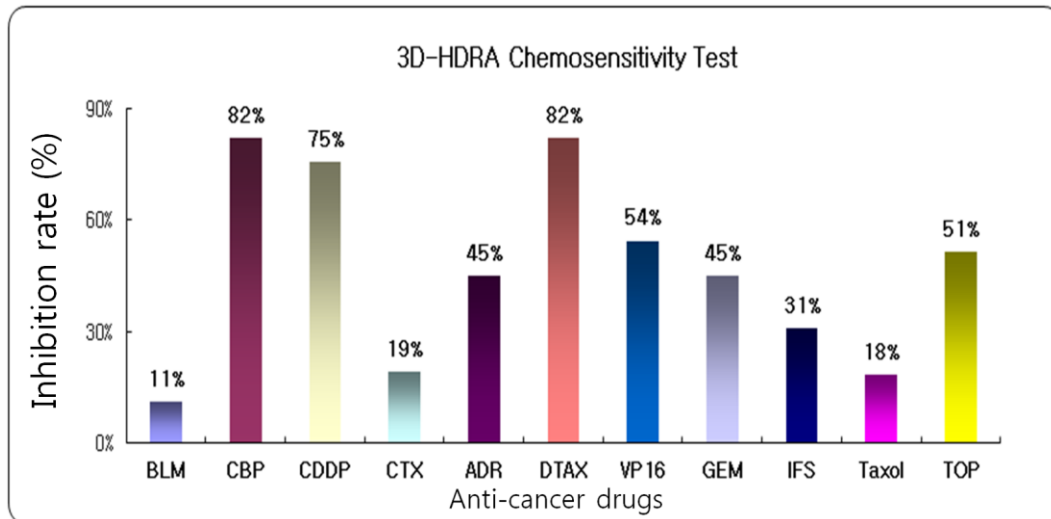
CBP (77%), CDDP (71%), TOP (62%)순으로 효과적인 HeLa cell 저해율을 보였으며, BLM (6%), CTX (19%), ADR (19%)는 상대적으로 낮은 저해율을 나타내었다.

### 3. GFP-HeLa 세포주의 *in vitro* 항암제 감수성 검사 (3차원 세포배양)

3차원 조직배양 항암제 감수성 검사 (3-Dimensional Histoculture Drug Resonse Assay)는 1980년대 말에 미국의 AntiCancer Inc.에서 개발된 기술로서 일본과 한국에서 환자 치료에 사용되는 검사법이다. 검사에 사용되는 항암제의 농도는 대부분 평균혈중농도를 사용하며 데 검사실마다 항암제 농도와 cut-off에서 약간의 차이를 보이고 있다. 본 연구에서는 국내에서 사용되는 항암제 농도를 사용하였는데 최종 농도는 Bleomycin : 20 $\mu$ g/ml, Carboplatin : 50 $\mu$ g/ml, Cisplatin : 10 $\mu$ g/ml,

Cyclophosphamide : 20 $\mu$ g/ml, Adriamycin : 6 $\mu$ g/ml, Docetaxel : 75 $\mu$ g/ml, VP16 : 50 $\mu$ g/ml, Gemcitabine : 50 $\mu$ g/ml, Ifosphamide : 250 $\mu$ g/ml, Paclitaxel : 10 $\mu$ g/ml, Topotecan : 10 $\mu$ g/ml을 사용하였다.

각 항암제에 대한 감수성 profile은 각각 11%, 82%, 75%, 19%, 45%, 82%, 54%, 45%, 31%, 18%, 51%의 IR을 나타내었다. 2차원 세포배양과의 결과와 비교하면 inhibition rate의 수치에서 약간의 차이를 보이나 대부분 동일한 반응을 나타내었다. 그러나 Adriamycin, Docetaxel과 Paclitaxel에서는 항암제에 대한 반응이 상반되게 나타났다. 3차원 조직배양 방법에서는 Adriamycin, Docetaxel에 감수성을 나타내었으나 2차원 배양방법에서는 감수성 없는 것으로 나타났으며 paclitaxel의 경우는 이와 반대로 나타났다 (그림 5).



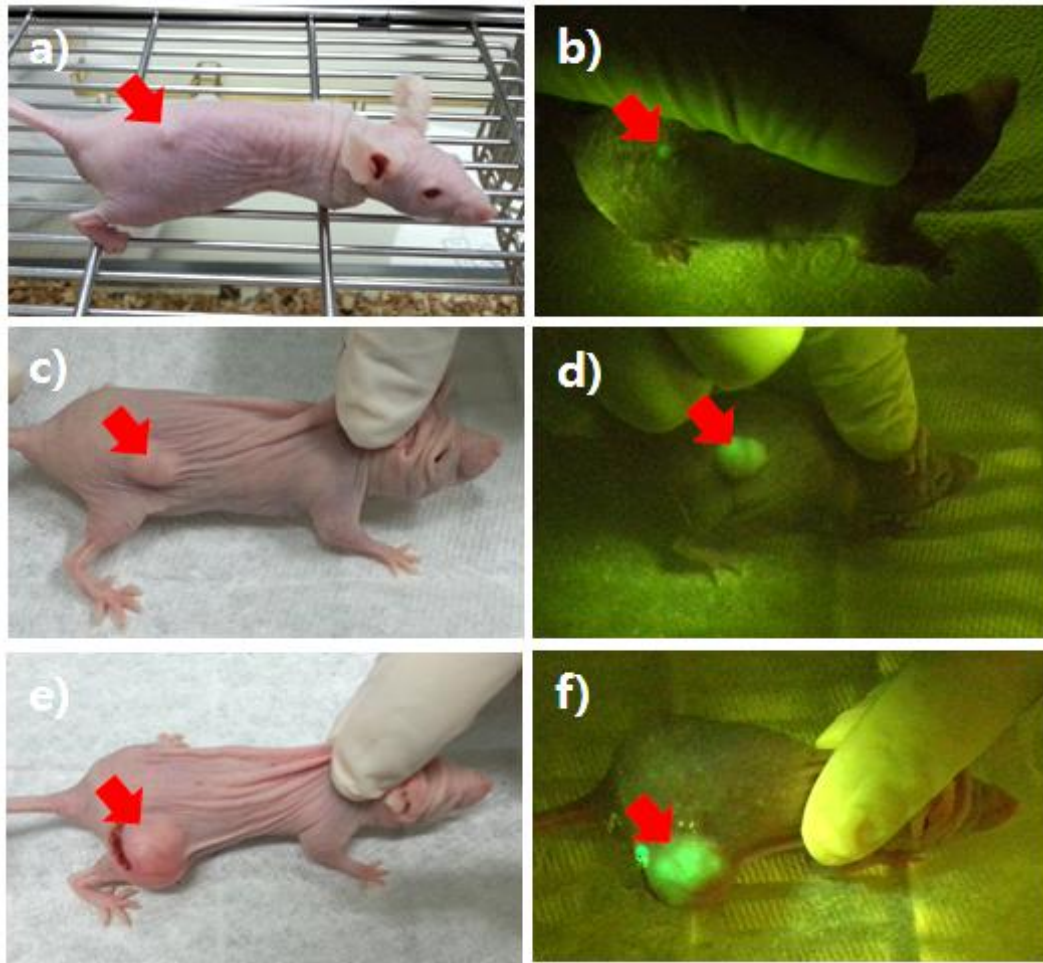
<Fig. 5> GFP-HeLa 암종괴의 3차원 조직배양법을 이용한 항암제 감수성 profile.

3 차원 종양배양 방법에서는 CBP (82%), DTAX (82%), CDDP (75%)순으로 HeLa cell 저해율을 나타냈으며, BLM (11%), Taxol (18%), CTX (19%)은 상대적으로 세포성장 저해율이 낮았다.

#### 4. 배양 세포주 이식

GFP-HeLa 세포주를 이용한 xenograft 모델을 제작하기 위하여 GFP-HeLa 세포주를 배양하여 1수당  $6 \times 10^6$ 개가 되도록 배양하였다. 배양된 세포는 2회의 PBS 세척 후에 1% antibiotics, 10% FBS가 함유된 DMEM 배지로  $6 \times 10^6$  cell/0.2ml이 되도록 혼탁하여 준비하였다. 일주일 동안 적응시킨 5주령 암컷 BALB/c nude mouse의 피하조직에 주사하고  $23 \pm 3$  °C, 상대습도  $55 \pm 15$  %로 항온 항습 장치를 이용하여 사육하며 암종괴의 형성과 성장을 관찰하였다. 암세포 주입 후 2주후부터 암종괴의 형성이 관찰되었으며 5주 후에는 직경이 1cm 정도로 관찰 되었으며 10주후에는 괴사된 조직들이 관찰되었다 (그림 6).





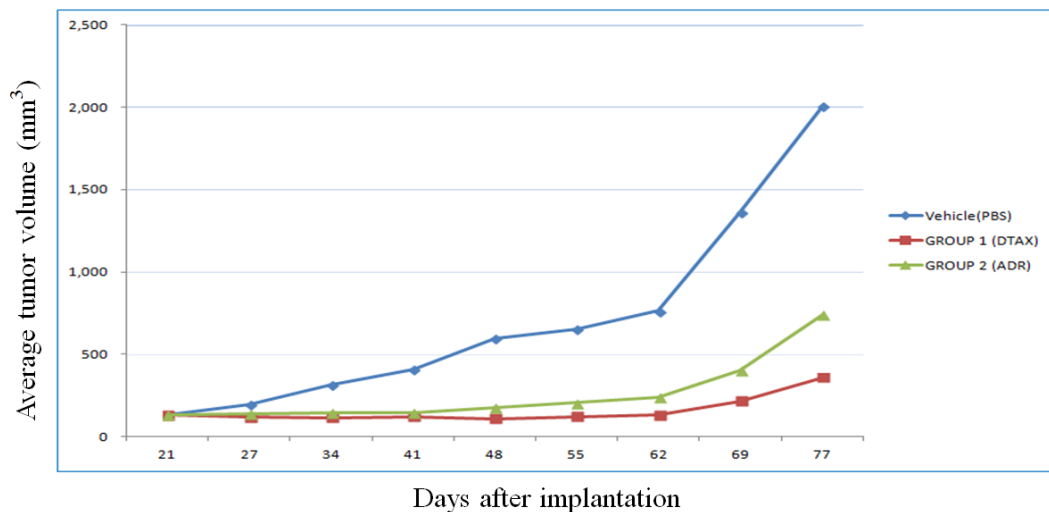
<Fig. 6> GFP-HeLa 세포주 이식 후 종피의 성장 과정. a), b) 암세포 주입 후 2주 경과, c), d) 암세포 주입 후 5주 경과 e), f) 암세포 주입 후 10주 경과, a), c), e) 가시광선하에서 관찰, b), d), f) 395/475 nm 광에서 관찰. 적색화살표 : GFP-HeLa 암종괴.

## 5. *in vivo* 항암제 효능실험 결과

GFP-HeLa 세포주를 주입하여 암종괴를 형성한 마우스를 희생시키고 암조직을 적출하였다. 종괴가 형성된 마우스로부터 적출한 암종괴를 2X2X2 mm의 크기로 작게 잘라 1조각을 nude mouse의 피하조직에 미세수술을 통하여 15수의 nude 마우스의 이식하고 항온 항습 장치에서 사육하였다. 이식날로부터 3주후 암종괴의 크기를 측정한 결과 대부분의 마우스에서 암종괴가 형성되었으며 그 크기는 폭이 5mm~7mm, 너비가 5.3~9mm였으며 종괴의 부피는 69~169mm<sup>3</sup>이었다. 이들 중 크기에서 큰 차이를 보이는 3수를 제외하고 12수를 3군으로 나누어 VEHICLE (PBS), Group 1 (Docetaxel)과 group 2 (Adriamycin)의 3군으로 나누어 각각 PBS, Docetaxel과 Adriamycin을 3주간격으로 꼬리정맥에 투여하며 매주 종양의 성장을 확인하였다 (Table 1).

<Table 1> GFP-HeLa 종괴에 대한 항암제의 효과. [Standard Deviation: SD]

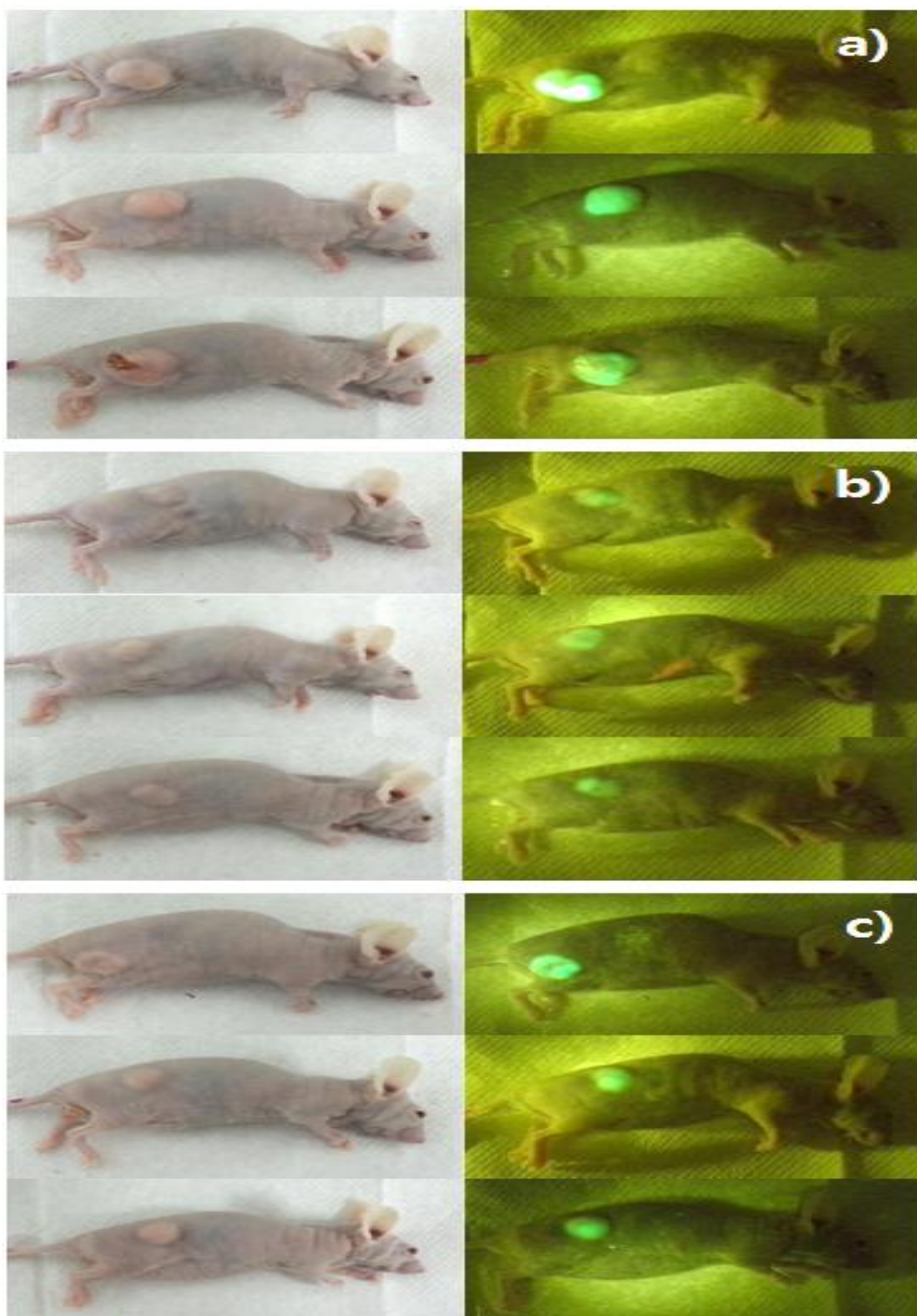
Days after implantation		21	28	35	42	49	56	63	70	77
Average Tumor Volume (mm <sup>3</sup> )	VEHICLE (PBS)	135	197	315	409	598	652	764	1,363	2,006
	SD	10.1	5.1	7.8	6.8	8.4	6.9	7.7	8.9	4.1
	GROUP 1 (DTAX)	131	117	115	120	108	120	131	215	358
	SD	5.9	8.1	4.3	6.7	9.5	4.6	12.1	3.9	6.7
	GROUP 2 (ADR)	132	139	145	147	178	206	239	404	739
	SD	3.7	6.4	6.9	4.7	7.8	7.0	10.4	6.8	4.9



<Fig. 7> 약제 투여에 따른 GFP-HeLa 종괴의 성장 비교. Group 1(DTAX), Group 2 (ADR), Group 3-Vehicle (PBS)간 종괴의 크기 비교에서 Group 1, 2는 대체로 유사한 종양크기가 유지되었으나 control group인 Group 3-Vehicle (PBS)에서는 종괴 이식 후 21일부터 GFP-HeLa 발현 종괴가 빠른 속도로 성장하는 양상을 나타내었다

암종괴 이식 후 3주 (21일)부터 종괴의 크기를 측정한 결과 Vehicle(PBS)군은 계속 종괴가 성장하였으며 일부는 9주 (63일) 후부터 종괴의 괴사도 관찰되었다. 그러나 Group 1 (DTAX)군과 Group 2 (ADR)군에서는 종괴 성장이 Vehicle (PBS)군과 크게 차이를 보였다. Group 1(DTAX) 군의 경우 오히려 암종괴의 크기가 7주 (49일) 후 까지 감소되다가 성장이 진행되는 양상을 보였다 (그림 7).

11주까지 사육한 후에 실험동물을 희생시키고 종괴의 크기와 GFP-Imaging system을 이용하여 확인하였다 (그림 8).



<Fig. 8> 11주 후 GFP-HeLa 종괴의 크기. a) Vehicle (PBS), b) Group 1 (DTAX), c) Group 2 (ADR). GFP-Imaging System하에서 각 Group간 GFP발현 정도를 관찰한 결과 Vehicle Group의 종괴 크기가 Group 2, 3에 비해 약 2.7-5.5배 정도 크게 성장한 것을 관찰하였다.

## IV. 고찰

항암화학요법이란 항암제를 사용하여 암세포를 사멸하는 치료방법으로서, 1960년대부터 사용되어왔지만 초기에 사용된 항암제들은 치료효과에 있어 뚜렷한 장점을 보이지 못하였으며 심각한 부작용을 동반하였다. 항암제의 부작용은 최소화하며 최대의 치료효과를 얻기 위하여 여러 가지 접근법들이 진행되어 왔다. 그 중 가장 최근에 연구되고 있는 접근법은 환자 개인별 유전자 발현 양상에 따른 항암제의 처방 또는 환자 암조직을 특별한 *in vitro* 환경에서 배양하며 항암제의 효과를 예측하여 가장 효과적인 항암제를 선택하여 치료하는 개인 맞춤 항암치료이다. *in vitro* 항암제 감수성 검사는 세포배양을 이용한 2차원 모델과 조직배양을 이용한 3차원 모델로 크게 나눌 수 있는데, 2차원 모델은 비교적 쉽게 할 수 있다는 장점이 있어 널리 사용되고 있지만 암세포에 있어 중요한 인자인 주변세포와의 상호작용이 배제되어 인체 내의 조직에 존재하는 암세포와 유전자 발현 등에서 차이가 있다고 보고되고 있다 (Kim *et al.*, 2004). 그러나 이러한 *in vitro* 항암제 감수성 검사는 배양형태에 따라 실제 생체 내의 환경과 많은 차이를 보이고 있어 항암제에 대한 반응이 실제 임상과 차이를 보이는데 이러한 차이를 극복하기 위하여 1980년대 이래로 마우스를 이용한 소동물 모델을 제작하여 항암제의 효능을 정확하게 예측하고자 하는 시도들의 연구결과 보고되고 있으며, 최근에는 새로운 항암제의 효과를 평가하기 위한 전임상 과정에서 확립된 세포주를 이용한 screening 이후에 마우스에 암세포주를 주입하여 제작한 xenograft

모델을 많이 사용하고 있다. xenograft 모델은 nude mouse 또는 SCID/NOD mouse에 암세포나 조직을 이식한 소동물 모델로서 적절한 환경 하에서는 임상적 결과를 예측하는 용도로 사용되고 있지만 두 가지 면에서 한계를 보이고 있는데 1) 암의 발생과 발달과정에 대한 정보를 연구하기 불가능하며 2) 암세포 자체에 대한 연구만 가능할 뿐 암세포와 숙주와의 복잡한 상호작용에 대한 연구는 불가능하다는 것이다 (Lee *et al.*, 2012). 이러한 한계를 극복하기 위하여 환자로부터 적출한 암조직을 면역기능이 없는 마우스에 이식하고 제한된 계대를 통해 제작된 소동물 모델인 tumorgraft 모델이 시도되고 있다. tumorgraft 모델은 환자의 암조직과 비교하여 tumor stroma cell, cancer stem cell component, 유전자 발현 양상, 암유전자 상태를 비롯한 생물학적 특성이 동일하다고 평가되고 있어, 특정 약제의 임상적 효과를 예측하기 위한 연구뿐만 아니라 암에 관련된 *in vivo* 연구의 가장 중요한 모델로서 사용되고 있다 (Duan *et al.* 2012).

본 연구에서는 가장 대표적인 자궁경부암 세포주인 HeLa 세포주에 GFP(Green Fluorescent Protein)이 발현되도록 한 GFP-HeLa 세포주를 이용하여 자궁경부암 종괴를 가진 xenograft 마우스 모델을 제작하였다. 이 마우스 모델로부터 적출한 종괴를 3차원조직배양 항암제 감수성 검사 (3-D HDRA)를 이용하여 종괴의 항암제 감수성 profile을 확인하였다. 실험에 사용한 항암제는 자궁경부암 치료에 사용되는 Bleomycin, Carboplatin, Cisplatin Cyclophosphamide, Adriamycin, Docetaxel, VP16(etoposide), Gemcitabine, Ifosfamide, Paclitaxel, Topotecan의 11가지를 사

용하였는데, 시행한 3차원 조직배양 항암제 감수성 검사에서 cut-off는 30%로서 30%를 넘는 inhibition rate를 나타내면 감수성이 있는 것으로 30% 이하이면 감수성이 없는 것으로 판정하였다. 2차원 배양 방식을 이용한 항암제 감수성 검사에서는 각각의 항암제에 대하여 6%, 77%, 71%, 19%, 19%, 25%, 46%, 54%, 48%, 35%, 62%를 나타내었으며 3차원적인 배양방법을 사용한 검사 결과에서는 각각 11%, 82%, 75%, 19%, 45%, 82%, 54%, 45%, 31%, 18%, 51%의 inhibition rate를 나타내었다. 두 가지 결과를 비교해 보면 대부분 항암제 감수성이 유사하지만 adriamycin, docetaxel과 paclitaxel에서 차이를 보이고 있다. 차이를 보이는 3가지 항암제 중에서 큰 차이를 보이고 있는 adriamycin과 docetaxel의 항암제 감수성을 확인하기 위하여 GFP-HeLa 세포주를 이용하여 xenograft 모델을 제작하고 *in vivo* test를 시행하였다. 제작된 12주의 GFP-HeLa xenograft 모델을 3군으로 나누어 약제를 전달하는데 사용한 vehicle (PBS), group 1 (docetaxel), group 2 (adrimycin)을 종괴 이식 3주 후부터 3주 간격으로 약제를 주사하고 주당 1회로 종괴의 크기를 측정하였다. 측정결과 vehicle (PBS)군에 비해 group 1 (adriamycin)과 group 2 (docetaxel)에서 뚜렷한 종괴의 성장억제를 나타내었다. 이상의 결과를 종합해보면 같은 세포라도 세포의 존재 형태에 따라 항암제에 대한 반응이 다를 수 있었는데, 이러한 결과는 암세포에 있어 주변세포와의 상호작용이 매우 중요한 인자이기 때문에 2차원적인 배양환경과 생체 내의 조직에 존재하는 암세포와 유전자 발현 등에서 차이가 있으며, 더욱이 암의 발생과 진행 형태는 매우 다양한 모습을 보이는데, 이것은 조직의 미세환경 내에



서 세포와 세포간의 지속적인 상호작용에 의한 것으로 판단되며 호르몬과 성장인자, 부착물질, 사이토카인 등에 의한 신호전달체계가 관여하고 있다는 연구결과 (Jacks *et al.* 2003)와 일치하고 있다. 따라서 암세포의 연구에 생체 내의 환경과 유사한 환경에서의 연구가 필수적이며, *in vitro* 환경보다는 *in vivo* 환경에서의 연구가 중요함을 의미한다.

## V. 결론

본 연구에서는 대표적인 자궁경부암 세포주인 HeLa 세포주를 이용하여 nude mouse의 피하조직에 자궁경부암 조직을 형성한 GFP-HeLa xenograft 모델을 만들어 세포 배양 방법에 따른 항암제 감수성을 확인하였다. 실험결과는 Hoffman등이 발표한 ‘The clinical benefit of the histoculture drug response assay’에서 제시한 3차원적 세포배양에 의한 항암제 감수성 검사와 유사한 결과를 보여 주었으며, 사용된 암세포는 주변 환경에 따른 생물학적 차이가 확인되었는데, 암의 연구와 치료적인 측면에서 동물모델이 또 하나의 중요한 도구가 될 수 있을 것으로 사료된다. 향 후 확립된 동물모델에 이식한 암조직과 암 조직 제공자 암조직과의 병리 및 분자 유전학 등 생물학적 특성을 비교 분석하여 실제 암환자 치료 시 항암제 투여 전 환자의 항암제 감수성에 관한 예후를 간접적으로 예측하여 치료의 효과를 높일 수 있는 길이 되리라고 기대되며, 향 후 다양한 암 모델과 많은 환자군을 대상으로 임상실험을 진행한다면 보다 유의성 있는 임상적 결과를 토대로 환자치료의 좋은 대안적 방법으로 제시 될 수 있으며, 항암제 효과에 관한 예비 검사를 통해 최적화된 약제를 투여함으로써 부작용을 최소화하여 환자의 삶의 질 개선에도 기여하는데 임상적 의미와 가치가 있으리라 사료된다. 그러나 동물모델 제작에 소요되는 시간적 고려와 환자와 동물모델의 암 조직간 유전학 및 병리학적 측면에서 동일성을 평가하는 연구는 추 후 연구를 통해 진행되어야 할 것으로 생각된다.

## 참고문헌

1. Hoffman RM. In vitro assays for chemotherapy sensitivity. Crit Rev Oncol Hematol. 15(2):99-111, 1993
2. Kim JB, Stein R, O'Hare MJ. Three-dimensional in vitro tissue culture models of breast cancer:a review. Breast Cancer Res Treat 85(3):281-91, 2004.
3. Duan P, Duan G, Liu YJ, Zheng BB, Hua Y, Lu JQ. Establishment of a visualized nude mouse model of cervical carcinoma with high potential of lymph node metastasis via total orthotopic transplantation. Eur J Gynaecol Oncol. 2012;33(5):472-6, 2012
4. Chung SH, Lambert PF. Prevention and treatment of cervical cancer in mice using estrogen receptor antagonists. Proc Natl Acad Sci USA. 106:19467-19472, 2009
5. Ryoo Z, Kim K-S. HPV 16 E6/E7 gene transgenic mouse for assessment of skin carcinogenesis. Laboratory Animal Research 21:116-121, 2005
6. Lee S, Kim JH, Kim H, Kang JW, Kim SH, Yang Y, Kim J, Park J, Park S, Hong J, Yoon DY. Activation of the interleukin-32 pro-inflammatory pathway in

response to human papillomavirus infection and over-expression of interleukin-32 controls the expression of the human papillomavirus oncogene. Immunology 132:410-420, 2011

7. Lee YY, Cho YJ, Choi JJ, Choi CH, Kim TJ, Kim BG, Bae DS, Kim YS, Lee JW. The effect of high-intensity focused ultrasound in combination with cisplatin using a Xenograft model of cervical cancer. Anticancer Res. 32:5285-5289, 2012
8. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics. CA Cancer J Clin 55:74-108, 2002
9. WHO World Cancer Report, 2014
10. Baselga J, Norton L, Albanell J, Kim YM, Mendelsohn J.. Recombinant humanized anti-HER2 antibody (Herceptin) enhances the antitumor activity of paclitaxel and doxorubicin against HER2/neu overexpressing human breast cancer xenografts. Cancer Res 58(13):2825-31, 1998
11. Bull JM, Tormey DC, Li SH, Carbone PP, Falkson G, Blom J, Perlin E, Simon R. A randomized comparative trial of adriamycin versus methotrexate in combination drug therapy. Cancer 41:1649-57, 1978

12. Cairns RA, Hill BP. A fluorescent orthotopic model of metastatic cervical carcinoma. *Clin Exp Metastasis* 21:275–281, 2004
13. Chang SG, Slocum HK, Tòth K, Hoffman RM, Perrapato SD, Huben RP, Rustum Y. Glucose consumption end point in primary histoculture indicates recovery of human tumors from drug treatment. *In Vitro Cell Dev Biol* 28A(9–10):585–7, 1992
14. Chen HX, Gore–Langton RE, Cheson BD. Clinical trials referral resource: Current clinical trials of the anti-VEGF monoclonal antibody bevacizumab. *Oncology* 15(8):1023–6, 2001
15. Duan P, Duan G, Liu YJ, Zheng BB, Hua Y, Lu JQ. Establishment of a visualized nude mouse model of cervical carcinoma with high potential of lymph node metastasis via total orthotopic transplantation. *Eur J Gynaecol Oncol.* 2012;33(5):472–6, 2012
16. Evans WE, McLeod HL. Pharmacogenomics – Drug Disposition, Drug Targets, and Side Effects. *N Engl J Med* 348:538–549, 2003
17. Fiebig HH, Schuchhardt C, Henss H, Fiedler L, Lohr GW. Comparison of tumor response in nude mice and in the patients. *Behring Inst Mitt* 74:343–3352, 1984

18. Fu X, Guadagni F, Hoffman RM. A metastatic nude-mouse model of human pancreatic cancer constructed orthotopically with histologically intact patient specimens. *Proc Natl Acad Sci USA*. 89(12):5645-9, 1992
19. Fu XY, Theodorescu D, Kerbel RS, Hoffman RM. .Extensive multi-organ metastasis following orthotopic onplantation of histologically-intact human bladder carcinoma tissue in nude mice. *Int J Cancer* 49(6):938-9, 1991
20. Furukawa T, Fu X, Kubota T, Watanabe M, Kitajima M, Hoffman RM. Nude mouse metastatic models of human stomach cancer constructed using orthotopic implantation of histologically intact tissue. *Cancer Res* 53(5):1204-8, 1993
21. Garber K. From human to mouse and back: 'tumorgraft' models surge in popularity. *J Natl Cancer Inst* 101:6-8, 2008
22. Johnson JI, Decker S, Zaharevitz D, Rubinstein LV, Venditti JM, Schepartz S, Kalyandrug S, Christian M, Arbuck S, Hollingshead M, Sausville EA. Relationships between drug activity in NCI preclinical in vitro and in vivo models and early clinical trials. *Br J Cancer* 84:1424-1431, 2001

23. Kalra AV, Kim J, Klinz SG, Paz N, Cain J, Drummond DC, Nielsen UB, Fitzgerald JB. Preclinical activity of nanoliposomal irinotecan is governed by tumor deposition and intratumor pro-drug conversion. *Cancer Res.* in press, 2014
24. Kim JB, Stein R, O'Hare MJ. Three-dimensional in vitro tissue culture models of breast cancer:a review. *Breast Cancer Res Treat* 85(3):281-91, 2004.
25. Klausner RD. studying cancer in the mouse. *Oncogene* 18:5249-5252, 1999
26. Lewis B, Sheiner MD. Learning versus confirming in clinical drug development *Clinical Pharmacology & Therapeutics* () 61, 275-291, 1997
27. Li J, Ping Z, Ning H. MiR-218 Impairs Tumor Growth and Increases Chemo-Sensitivity to Cisplatin in Cervical Cancer. *Int J Mol Sci* 13:16053-6064, 2012
28. Muñoz N, Bosch FX, de Sanjosé S, Herrero R, Castellsagué X, Shah KV, Snijders PJ, Meijer CJ. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med* 348: 518-27, 2003
29. Robbins KT, Connors KM, Storniolo AM, Hanchett C, Hoffman RM. Sponge-gel-supported histoculture drug-response assay for head and neck cancer.

Correlations with clinical response to cisplatin. Arch Otolaryngol Head Neck Surg 120(3):288-92, 1994

30. Roth AD, Maibach R, Martinelli G, Fazio N, Aapro MS, Pagani O, Morant R, Borner MM, Herrmann R, Honegger H, Cavalli F, Alberto P, Castiglione M, Goldhirsch A. Docetaxel (Taxotere)-cisplatin (TC): an effective drug combination in gastric carcinoma. Swiss Group for Clinical Cancer Research (SAKK), and the European Institute of Oncology (EIO), Ann Oncol 11(3):301-6, 2000
31. Thomas M, Pim D, Banks L. The role of the E6-p53 interaction in the molecular pathogenesis of HPV. Oncogene 18:7690-7700, 1999
32. Vescio RA, Connors KM, Kubota T, Hoffman RM. Correlation of histology and drug response of human tumors grown in native-state three-dimensional histoculture and in nude mice. Proc Natl Acad Sci USA 88(12):5163-6, 1991
33. Voskoglou-Nomikos T, Pater JL, Seymour L. Clinical predictive value of the in vitro cell line, human xenograft, and mouse allograft preclinical cancer models. Clin Cancer Res 9:4227-4239, 2003
34. Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, Bosch FX, Kummer JA, Shah KV,



Snijders PJ, Peto J, Meijer CJ, Muñoz N. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol* 189:12-19, 1999

35. Wani KM, Huilgol NG, Hongyo T, Shah K, Chatterjee N, Nair CK, Nomura T. Genetic alterations in the coding region of the bak gene in uterine cervical carcinoma. *Br J Cancer*. 88(10):1584-6, 2003

36. 김찬주, 이용석, 이근호, 정병문, 김태우, 강태홍, 김희숙, 박종섭. 자궁경부암 동물 모델에서 PEG/PLLA copolymer system을 사용한 Paclitaxel 국소투여의 효과. *부인종양* 19(1):68-74, 2008

## Abstract

# Production and Characteristic Analysis of Cervical Cancer Xenograft Animal Model for Anticancer Drug Activity

Hyun-Il Choi

Dept. of Medicine

The Graduate School

Yonsei University

Cervical cancer is a cancer arising from the uterine cervix. Estimated deaths from cervical cancer in 2012 are 266,000 worldwide. Considering both proper treatment and patient quality of life, the histoculture drug response assay (HDRA) would be clinically essential to patients. In this study, we evaluated the efficacy of xenografted animal model of the HDRA in human cervical cancer. We have investigated the correlation between *in vitro* chemosensitivity, as determined by the HDRA and cervical cancer xenografted animal model. The results propose that the HDRA is capable of predicting the response to anti-cancer chemotherapy in patients with cervical cancer. Therefore, it seems that HDRA can assess the

sensitivity to anticancer drugs in conditions similar to those in vivo conditions. Prediction to chemotherapy would be beneficial for cervical cancer patients through offering better outcomes as well as reducing adverse events, thereby allowing for customized chemotherapy. Collectively, our study shows that HDRA could provide useful information and prediction for designing individual chemotherapy strategies in patients with cervical cancer patients.

---

Key words : Cervical cancer, HDRA, Xenografted animal model,